

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : A61K 39/00		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/29015
		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. Mai 2000 (25.05.00)	
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/03671		(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts. Mit Angaben über hinterlegtes biologisches Material, eingereicht gemäss Regel 13bis getrennt von der Beschreibung.</i>	
(22) Internationales Anmeldedatum: 16. November 1999 (16.11.99)			
(30) Prioritätsdaten: 198 52 804.3 16. November 1998 (16.11.98) DE			
(71)(72) Anmelder und Erfinder: WAGENER, Christoph [DE/DE]; Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20251 Hamburg (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ERGÜN, Süleyman [DE/DE]; Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20251 Hamburg (DE).			
(74) Anwalt: SCHÜSSLER, Andrea ; Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).			
(54) Title: INFLUENCING OF ANGIOGENESIS USING CD66a			
(54) Bezeichnung: BEEINFLUSSUNG DER ANGIOGENESE DURCH CD66a			
(57) Abstract The invention relates to a pharmaceutical composition for influencing angiogenesis.			
(57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Beeinflussung der Angiogenese.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidsschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Beeinflussung der Angiogenese durch CD66a

Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Beeinflussung der Angiogenese. Im einen Fall kann durch Verabreichung von CD66a oder Substanzen, die die Bildung von CD66a initiieren, die Angiogenese gefördert werden, während im anderen Fall durch die Verwendung von Substanzen, die die Interaktion zwischen CD66a und CD66a-Liganden verhindern, die Angiogenese gehemmt werden kann.

Die Ausbildung von Blutgefäßen (Angiogenese) ist für viele Krankheiten ein wichtiger Schritt, der einerseits zur Heilung beitragen kann, aber auch in anderen Fällen wünschenswerterweise unterbunden werden soll. Eine Förderung der Angiogenese ist beispielsweise für Herz-Kreislauf-Krankheiten, z.B. zur Behandlung von Angina pectoris oder Herz- bzw. Hirninfarkten, sehr wünschenswert. Andererseits ist die Hemmung der Gefäßversorgung maligner solider Tumore bei Mensch und Tier ein vielversprechender Ansatz in der Tumorthherapie. Angiogeneseinhibitoren, wie beispielsweise Endostatin, greifen direkt normale und daher genetisch stabile Endothelzellen der Blutgefäße, die einen Tumor versorgen, an, bringen diese zum Absterben und unterbinden somit die Versorgung der Tumorzellen mit nährstoffhaltigem Blut (vgl. Kerbel, R., Nature, 390, S. 335ff., 1997). Dadurch kommt es zu einer Regression von Blutgefäßen und Tumormasse. Da die Endothelzellen im Gegensatz zu den Tumorzellen genetisch stabil sind, kommt es nicht zur Ausbildung von Resistenzen, wie es beispielsweise bei der direkt gegen die Tumorzellen gerichteten Cytostatikatherapie der Fall ist. Durch Hemmung der Angiogenese ließ sich in experimentellen Modellen das Wachstum menschlicher Tumore blockieren. Inzwischen befinden sich einige Angiogenesehemmer in der klinischen Erprobung (vgl. Hanahan et al., Cell 86, 353-364 (1996)).

Die Versorgung von Geweben mit neuen Gefäßen ist ein komplexer Prozeß, an dem eine Vielzahl von Biomolekülen beteiligt ist. Tumore produzieren beispielsweise lösliche Mediatoren, die die Ausbildung neuer Gefäße initiieren. Im weiteren Verlauf der Angiogenese spielen Adhäsionsmoleküle eine zentrale Rolle, die die Kommunikation von Gefäßzellen untereinander und mit dem umgebenden Bindegewebe steuern. Schließlich sind an der Neubildung von Gefäßen auch verschiedene Proteinasen beteiligt.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Möglichkeit bereitzustellen, die Angiogenese je nach Bedarf fördern oder hemmen zu können. Im Fall der Hemmung der Angiogenese soll damit eine Form der Krebstherapie ohne Resistenzentwicklung bereitgestellt werden, d.h. es soll insbesondere in die einen Tumor begleitende Angiogenese im Sinne einer Reduktion bzw. Hemmung eingegriffen werden.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch die Gegenstände der Patentansprüche gelöst.

Gegenstand der vorliegenden Anmeldung ist insbesondere ein pharmazeutische Zusammensetzung, die sich zur Regulierung der Angiogenese eignet. Eine solche Zusammensetzung umfaßt:

- (a) zur positiven Regulierung
ein oder mehrere Stoffe von
CD66a, CD66a-Fragmenten oder von CD66a
abgeleitete Glykostrukturen, oder CD66a-
Liganden, Ligandenfragmenten oder daraus
abgeleiteten Strukturen, sowie Substanzen, die
die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand
induzieren

oder

- (b) zur negativen Regulierung
ein oder mehrere Stoffe von

Substanzen, die die Wechselwirkung zwischen CD66a und CD66a-Liganden hemmen, oder Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand hemmen.

Das Protein CD66a, das auch als biliäres Glykoprotein (BGP), "transmembrane carbonembryonic antigen" oder humanes C-CAM bezeichnet wird, ist ein spezielles Adhäsionsmolekül. Im folgenden wird die Bezeichnung CD66a verwendet. Das CD66a codierende Gen wurde bereits cloniert (Hinoda et al., PNAS 85, 6959-6963, 1988). Die Anmelder der vorliegenden Anmeldung beschrieben bereits 1991 den weltweit einzigen CD66a-spezifischen monoclonalen Antikörper (Drzeniek et al., Cancer Letters 56, 173-179 (1991); Stoffel et al., J. Immunol. 150, 4978-4984 (1993)). Dieser Antikörper wird als 4D1/C2 bezeichnet und wurde am 22. Oktober 1998 bei der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen), Mascheroder Weg, Braunschweig unter der Hinterlegungsnummer DSM ACC2371 hinterlegt.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß der Faktor CD66a in Tumorkapillaren exprimiert wird, während die Blutgefäße der entsprechenden Normalgewebe negativ sind.

In einem humanen Leydig-Zell-Tumor ließen sich die einzelnen Stadien der Gefäßneubildung genau verfolgen. Hierbei wurde gefunden, daß bestimmte Stadien der Gefäßneubildung mit dem Auftreten der folgenden Faktoren korreliert werden können:

1. Proliferation von Endothelzellen: VEGF (vascular endothelial growth factor), VEGF-Rezeptoren
2. Ausbildung von Gefäßlumina: CD66a
3. Nächster Differenzierungsschritt: Endostatin
4. Nächster Differenzierungsschritt: Angiostatin

Es konnte in jüngsten Versuchen der Erfinder mit Hühnerembryonen gezeigt werden, daß CD66a ein potenter angiogenetischer Faktor ist und die Gefäßneubildung bei

Normal- und Tumorgewebe fördert.

Es konnte ebenfalls gezeigt werden, daß durch einen gegen CD66a gerichteten Antikörper die Blockierung von CD66a erfolgte und die Kapillarbildung, die für ein Tumorwachstum notwendig ist, gehemmt wird. Ein Tumorwachstum kann nicht mehr stattfinden.

CD66a läßt sich in menschlichen Tumoren in neugebildeten Blutgefäßen (Kapillaren) in einem definierten Differenzierungsfenster, nämlich im Stadium der Lumenbildung, nachweisen. In einem in-vitro Differenzierungsmodell hemmt ein monoklonaler CD66a-Antikörper die Ausbildung von Gefäßrohren (tube formation) durch humane Endothelzellen. Diese Ergebnisse belegen, daß CD66a eine wesentliche Rolle bei der Angiogenese spielt. Aus der Expression von CD66a in Tumorgefäßen und der Hemmung der Ausbildung kapillärer Strukturen in-vitro durch einen monoklonalen CD66a-Antikörper folgt, daß durch funktionelle Blockierung von CD66a die Tumorangio-genese gehemmt werden kann.

Versuche mit Transfektomen haben gezeigt, daß CD66a an sich selbst bindet (homotypische Bindung) und an andere Mitglieder der CD66-Familie bindet. Die Lokalisation von CD66a in neu gebildeten Endothelien am basalen Zellpol sowie die Hemmung der Kapillarbildung ist ein Indiz dafür, daß CD66a mit Bestandteilen der extrazellulären Matrix interagiert.

Für die einerseits erfindungsgemäß beabsichtigte Hemmung von CD66a sind insbesondere Antikörper, Peptide, Proteine oder andere Agentien, die spezifisch an eine oder mehrere der funktionellen Domänen von CD66a oder seiner Liganden binden, geeignet. Bevorzugt werden monoklonale Antikörper, die gegen adhäsive, funktionell bedeutsame Domänen von CD66a gerichtet sind, verwendet. Ferner besitzt CD66a Glykostrukturen, die angiogenetisch wirksam sein können, so z.B. LewisX und Sialyl-LewisX-Gruppen. Bevorzugt wird der oben bereits erwähnte monoklonale CD66a-Antikörper 4D1/C2 verwendet. Dadurch kommt es zu

einer Hemmung der Tumorangiogenese über eine funktionelle Inaktivierung von CD66a. Die funktionelle Inaktivierung von CD66a erfolgt dabei durch Hemmung der Wechselwirkung zwischen CD66a und möglichen Liganden. Hierbei werden Strukturen blockiert, die die Interaktion vermitteln. Ferner können auch lösliche Liganden bzw. lösliche Ligandendomänen eingesetzt werden, um die Interaktion zu blockieren. Die Erfindung betrifft auch die Verwendung rekombinanter Domänen, die einem CD66a-Fragment entsprechen, sowie Fragmente von Antikörpern, die im wesentlichen mit dem Epitop von CD66a reagieren. Dadurch wird die von CD66a ausgehende Signalkette blockiert. Die eingesetzten Verbindungen können auch in geeigneter Weise modifiziert werden, so daß sie z.B. irreversibel an den Rezeptor binden.

Für die andererseits erfindungsgemäß beabsichtigte Förderung der Angiogenese sind insbesondere CD66a als Gesamtmolekül, CD66a-Domänen sowie spezifische Glykostrukturen von CD66a geeignet. In diesen Fällen wird die lösliche Molekülform an Orten des Körpers appliziert, an denen eine Angiogenese ausgelöst werden soll (z.B. im Herzmuskel). Ferner kann auch eine DNA Verwendung finden, die für CD66a oder Teile des CD66a-Proteins kodiert. Die DNA kann auch in Vektoren integriert sein, die in der Gentherapie gebräuchlich sind (z.B. Adenoviren). Auch durch Gabe von einfacher Plasmid-DNA kann eine Synthese des Proteins erreicht werden. Die positive Beeinflussung der Angiogenese wird durch eine Förderung der Interaktionen zwischen CD66a und CD96a-Liganden bewirkt.

Verfahren zur Gewinnung oben erwähnter Antikörper, die zur Hemmung der Angiogenese eingesetzt werden können, sind dem Fachmann bekannt und umfassen beispielsweise bezüglich polyclonaler Antikörper die Verwendung von CD66a oder eines Fragments davon als Immunogen zur Immunisierung geeigneter Tiere und die Gewinnung von Serum. Verfahren zur Herstellung monoclinaler Antikörper sind dem Fachmann ebenfalls bekannt. Dazu werden beispielsweise Zell-Hybride aus Antikörper produzierenden Zellen und Knochenmark-Tumorzellen

(Myelomzellen) hergestellt und cloniert. Anschließend wird ein Clon selektioniert, der einen Antikörper produziert, der für CD66a spezifisch ist. Dieser Antikörper wird dann gemäß Standardverfahren hergestellt. Beispiele von Zellen, die Antikörper produzieren, sind Milzzellen, Lymphknotenzellen, B-Lymphozyten etc.. Beispiele von Tieren, die zu diesem Zweck immunisiert werden können, sind Mäuse, Ratten, Pferde, Ziegen und Kaninchen. Die Myelomzellen lassen sich aus Mäusen, Ratten, Menschen oder anderen Quellen erhalten. Die Zellfusion kann man beispielsweise durch das allgemein bekannte Verfahren von Köhler und Milstein durchführen. Die durch Zellfusion erhaltenen Hybridome werden mittels CD66a nach dem Enzym-Antikörper-Verfahren oder nach einem ähnlichen Verfahren abgesucht. Clone werden beispielsweise mit dem Grenz-Verdünnungsverfahren erhalten. Die erhaltenen Clone werden BALB/c-Mäusen intraperitoneal implantiert, nach 10 bis 14 Tagen wird der Ascites der Maus entnommen, und der monoclonale Antikörper durch bekannte Verfahren (beispielsweise Ammoniumsulfatfraktionierung, PEG-Fraktionierung, Ionenaustauschchromatographie, Gelchromatographie oder Affinitätschromatographie) gereinigt. Der gewonnene Antikörper kann direkt verwendet werden oder es kann ein Fragment davon verwendet werden. In diesem Zusammenhang bedeutet der Begriff "Fragment" alle Teile des Antikörpers (z.B. Fab-, Fv- oder "single chain Fv"-Fragmente), welche die gleiche Epitopspezifität wie der vollständige Antikörper aufweisen.

In einer Ausführungsform ist der genannte monoclonale Antikörper ein aus einem Tier (z.B. Maus) stammender Antikörper, ein humanisierter Antikörper oder ein chimärer Antikörper oder ein Fragment davon. Chimäre, menschlichen Antikörper ähnelnde oder humanisierte Antikörper besitzen eine herabgesetzte potentielle Antigenität, jedoch ist ihre Affinität gegenüber dem Ziel nicht herabgesetzt. Die Herstellung von chimären und humanisierten Antikörpern bzw. von den menschlichen Antikörpern ähnelnden Antikörpern wurde ausführlich beschrieben (Noguchi, Nippon Rinsho, 1997, 55(6), S. 1543-1556; van Hogezaand, Scand. J. Gastroenterol. Suppl.

1997, 223, S. 105-107). Humanisierte Immunglobuline weisen variable Grundgerüstbereiche auf, die im wesentlichen von einem humanen Immunglobulin stammen (mit der Bezeichnung Akzeptor-Immunglobulin) und die Komplementarität der determinierenden Bereiche, die im wesentlichen von einem nicht-menschlichen Immunglobulin (z.B. von der Maus) stammen (mit der Bezeichnung Donor-Immunglobulin). Die (der) konstante(n) Bereich(e) stammt/stammen, falls vorhanden, auch im wesentlichen von einem menschlichen Immunglobulin. Bei der Verabreichung an menschliche Patienten bieten die erfindungsgemäßen humanisierten (sowie die menschlichen) anti-CD66a-Antikörper eine Reihe von Vorteilen gegenüber Antikörpern von Mäusen oder anderen Spezies: (a) das menschliche Immunsystem sollte das Grundgerüst oder den konstanten Bereich des humanisierten Antikörpers nicht als fremd erkennen und daher sollte die Antikörper-Antwort gegen einen solchen injizierten Antikörper geringer ausfallen als gegen einen vollständig fremden Maus-Antikörper oder einen partiell fremden chimären Antikörper; (b) da der Effektorbereich des humanisierten Antikörpers menschlich ist, dürfte er mit anderen Teilen des menschlichen Immunsystems besser interagieren, und (c) injizierte humanisierte Antikörper weisen eine Halbwertszeit auf, die im wesentlichen zu der von natürlich vorkommenden menschlichen Antikörpern äquivalent ist, was es erlaubt, kleinere und weniger häufige Dosen im Vergleich zu Antikörpern anderer Spezies zu verabreichen.

Die vorstehend beschriebene konventionelle Technologie kann auch durch die Verwendung rekombinatorischer Phagen-Libraries ergänzt oder ersetzt werden (Felici et al., Biotechnol. Rev. 1, S. 149-183 (1995); Hoogenboom et al., Immunotechnology 4, S. 1-20 (1998)). Rekombinante Phagenlibraries können in den Antigen-bindenden Regionen der von Phagen präsentierten Antikörperfragmente zufällige Peptidstrukturen aufweisen. Der Vorteil dieser Technologie liegt u.a. darin, daß in klonierten Phagen die Information über die Aminosäuresequenz der Antigen-Bindungsstrukturen unmittelbar vorliegt.

Die Domänen von CD66a bzw. der CD66a-Liganden, deren Blockierung eine funktionelle Inaktivierung von CD66a bewirkt, können in beliebiger Weise rekombiniert werden und in Moleküle eingebaut, die zu therapeutischen Zwecken geeignet sind, verwendet werden (z.B. zur Erreichung besserer immunologischer

Verträglichkeit). Die reaktiven Domänen können auch gemäß molekularbiologischer Standardmethoden, z.B. bakteriell oder in Insektenzellen, exprimiert werden.

Vorzugsweise kann die Hemmung der Interaktion zwischen CD66a und potentiellen Liganden auf folgenden Wegen erfolgen (negative Regulierung):

- Hemmung durch Antikörper und -fragmente gegen die funktionelle Domäne von CD66a
- Hemmung durch Antikörper und -fragmente gegen die funktionellen Domänen der CD66a-Liganden
- Hemmung durch die funktionelle Domäne von CD66a
- Hemmung durch die funktionelle Domäne der CD66a-Liganden
- Hemmung der endogenen Bildung von CD66a oder CD66a-Liganden durch Einsatz von Anti-Sense-Oligonukleotiden.

Vorzugsweise kann die Förderung der Interaktion zwischen CD66a und potentiellen Liganden auf folgenden Wegen erfolgen (positive Regulierung):

- Applikation des nativen, mittels biochemischer Methoden gereinigten Moleküls
- Applikation rekombinanter CD66a-Fragmente
- Applikation angiogenetisch aktiver, aus CD66a isolierter Glykostrukturen
- Applikation vollsynthetisch oder teilsynthetisch hergestellter Glykostrukturen, deren Struktur aus angiogenetisch aktiven Glykostrukturen von CD66a abgeleitet wurde,

- Applikation einer DNA, die für das vollständige CD66a-Protein davon kodiert, in Form von geeigneten Vektoren oder Plasmiden
- Applikation einer DNA, die für Isoformen oder Fragmente von CD66a kodiert, in Form von geeigneten Vektoren oder Plasmiden.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen können auf jedem beliebigen Weg verabreicht werden, der geeignet ist, das beabsichtigte Gewebe zu erreichen. Bevorzugt erfolgt die Verabreichung parenteral, bevorzugt oral, intravenös oder intratumoral. Zur Verabreichung wird die Substanz in einer für die jeweilige Verabreichungsart geeigneten Formulierung unter Zuhilfenahme entsprechender üblicher pharmazeutischer Exzipientien verwendet. Die Entwicklung oral applizierbarer Pharmaka erfolgt auf zwei Wegen. Zum einen kann die Interaktion zwischen Ligand und Rezeptor z.B. durch Röntgenstrukturanalyse oder NMR-Spektroskopie modelliert werden. Zum anderen können chemische kombinatorische Libraries (Myers, Current Opinion in Biotechnology 8, S. 701-717 (1997)) verwendet werden. Hier wird die Interaktion des Liganden bzw. Rezeptors mit zunächst weitgehend zufällig zusammengestellten chemischen Verbindungen untersucht. Wenn eine Bindung nachgewiesen wurde, lassen sich die Bindungseigenschaften durch Auswahl ähnlicher Verbindungen näher eingrenzen.

Die Dosierung und die Posologie der Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindungen wird vom Arzt anhand der patientenspezifischen Parameter wie z.B. Alter, Gewicht, Geschlecht, Schwere der Erkrankung, etc. bestimmt.

Entsprechend der Art der Verabreichung wird das Medikament in geeigneter Weise formuliert, z.B. in Form von Lösungen, Suspensionen, als Pulver, Tablette oder Kapsel oder Injektionspräparate, die nach üblichen galenischen Verfahren hergestellt werden.

Die Infusions- oder Injektionslösungen sind bevorzugt wässrige

Lösungen oder Suspensionen, wobei es möglich ist, diese vor Gebrauch herzustellen, beispielsweise aus lyophilisierten Präparaten, die den Wirkstoff alleine oder zusammen mit einem Träger, wie Mannit, Lactose, Glucose, Albumin und dergleichen, enthalten. Die gebrauchsfertigen Lösungen werden sterilisiert und gegebenenfalls mit Hilfsmitteln vermischt, beispielsweise mit Konservierungsstoffen, Stabilisatoren, Emulgatoren, Lösungsvermittlern, Puffern und/oder Salzen zur Regulierung des osmotischen Drucks. Die Sterilisierung kann durch Sterilfiltration durch Filter mit einer kleinen Porengröße erzielt werden, wonach die Zusammensetzung gegebenenfalls lyophilisiert werden kann. Antibiotika können auch zugesetzt werden, um die Beibehaltung der Sterilität zu unterstützen.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen enthalten eine therapeutisch wirksame Menge einer oder mehrere oben angegebener Wirksubstanz(en) zusammen mit üblichen Hilfs- und Trägerstoffen. Diese sind bevorzugt organische oder anorganische flüssige pharmazeutisch verträgliche Träger, die für die beabsichtigte Verabreichung geeignet sind, und die mit den aktiven Inhaltsstoffen nicht nachteilig wechselwirken.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Präparate werden in Dosiseinheitsformen abgegeben, beispielsweise als Ampullen.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Produktion einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die erfindungsgemäße Verbindung mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger vermischt wird.

"Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand hemmen" werden bevorzugt auf gentherapeutischem Weg verabreicht, indem in Tumorzellen beispielsweise anti-sense Oligonukleotide zu CD66a und/oder CD66a-Ligand eingebracht werden. Diese Oligonukleotide sind von den bekannten Sequenzen für CD66a oder CD66a-Ligand abgeleitet (Hinoda et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 85, S. 6959 (1988)). Die anti-sense Oligonukleotide können auch die Größe einer RNA erreichen, die

zu Bereichen der mRNA des Gens komplementär ist und an diese bindet. Es entsteht dann ein Duplexmolekül, das der Translation der mRNA entzogen ist. Damit kann eine Hemmung der Genexpression erreicht werden. Der Ausdruck "anti-sense-Oligonukleotid" umfaßt jegliches DNA- oder RNA-Molekül, das komplementär zu Bereichen der CD66a-RNA oder CD66a-Ligand-RNA, insbesondere mRNA und ganz besonders Regulationselementen dieser, ist und durch Bindung an diese Bereiche eine Hemmung der Genexpression bewirkt. Die anti-sense-Oligonukleotide können als solche oder, wenn sie länger sind, in Form eines sie kodierenden Vektors bzw. Vektorkonstrukts, das gelegentlich auch als "Minigen" bezeichnet wird, vorliegen. Ein solcher Vektor kann ein üblicher Expressionsvektor sein. Günstig kann es sein, wenn die Expression der für sie kodierenden Sequenz unter der Kontrolle eines konstitutiven oder induzierbaren Promotors, wie eines Gewebe- oder Tumorspezifischen Promotors, steht. Die Einbringung der anti-sense Moleküle kann durch übliche Verfahren erfolgen. Liegen die anti-sense-Oligonukleotide als solche oder in Form eines sie kodierenden Vektors vor, eignen sich z.B. Transfektionstechniken oder es eignet sich z.B. eine Verpackung in Liposomen.

"Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand induzieren", sind beispielsweise DNA-Moleküle, die für CD66a bzw. angiogenetisch wirksame CD66a-Fragmente, oder aber für CD66a-Liganden bzw. angiogenetisch wirksame Liganden-Fragmente kodieren. Die Expression wird durch geeignete regulatorische Sequenzen gesteuert. Die Verabreichung der DNA erfolgt nach Protokollen, die einem Fachmann der Gentherapie bekannt sind. So kommt z.B. eine Verpackung der DNA in Viruspartikel (z.B. Adenoviren), oder aber die Gabe von nackter Plasmid-DNA in Frage.

Erfindungsgemäß kann mit der Angiogenese hemmenden pharmazeutischen Zusammensetzung das Wachstum aller soliden Tumore des Körpers gehemmt werden. Beispiele sind epitheliale Tumore (z.B. Platten-, Zylinder-, Drüsen-, Übergangsepithel), mesenchymale Tumore (z.B. Faser, Muskel, Knorpel und

Kochengewebe), Mischtumoren (gemischt epithelial, gemischt mesenchymal, epithelial-mesenchymal), Tumore der blutbildenden und lymphatischen Gewebe (Knochenmark, lymphatische Gewebe), Tumoren der serösen Höhlen (z.B. Lungenfell, Herzbeutel, Bauchfell, Gelenkinnenhaut), Tumore des Nervensystem (z.B. Ganglienzellen, Neuroepithel, Neuroglia, Hirnhäute, Sympathikus, periphere Nerven), Tumore des Magen-Darm-Trakts und Tumore einzelner Organe. Bevorzugt wird erfindungsgemäß das Wachstum von Tumoren der Bronchien und der Lunge, der Brust, der Leber, der Galle, der Pankreas, der Nieren und Harnorgane, des Magens, des Dickdarms, des Mastdarms, der Prostata und der Gebärmutter gehemmt.

Erfindungsgemäß kann mit der Angiogenese-fördernden pharmazeutischen Zusammensetzung die Gefäßneubildung bei solchen Erkrankungen induziert werden, bei denen der krankheitsbedingte Verschluss von Gefäßen zu einer Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen führt. Als Beispiele seien koronare Herzerkrankungen oder Minderdurchblutungen der Extremitäten bei Diabetikern, starken Rauchern oder Patienten mit hohem Blutdruck genannt.

Die Erfindung wird anhand der Figuren näher beschrieben:

Fig. 1 Lokalisation von CD66a in den Gefäßen eines humanen Leydig-Zell-Tumors. Die immunhistochemische Färbung wurde mit dem Antikörper 4D1/C2 durchgeführt.

Fig. 1a: eine der angefärbten Tumorkapillaren ist mit einem Pfeil markiert (x350)

Fig. 1b: Vergrößerung eines Bereichs aus Fig. 1a. Der Pfeil weist auf die Färbung einer Endothelzelle hin (x950)

Fig. 2 Chemotaktischer Effekt von CD66a (=BGP) auf HDMEC

Fig. 3 Proliferation von HDMEC nach der Stimulation mit CD66a (= BGP)

Fig. 4 Wirkung von CD66a auf die Ausbildung kapillarähnlicher Gefäßrohre in Zellkultur

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

Lokalisation von CD66a in Tumorkapillaren

Unter Verwendung des monoclonalen Anti-CD66a-Antikörpers 4D1/C2 wurden Tumoren immunhistochemisch gefärbt und lichtmikroskopisch untersucht. Hierbei wurde zusätzlich zu den zuvor angewendeten immunhistochemischen Verfahren (Prall et al. (1996), J. Histochem. Cytochem. 44, 35-41) eine Verstärkungsmethode mit Nickel und Glukoseoxidase eingesetzt. Weiterhin wurden nach immunhistochemischer Färbung mit dem monoclonalen Antikörper 4D1/C2 elektronenmikroskopische Analysen durchgeführt (s. Fig. 1).

Es wurden menschliche Hodentumoren, Hirntumoren sowie Prostata-, Harnblasen- und Nierenkarzinome immunhistochemisch untersucht. CD66a wurde in Endothelzellen und in der Basalmembran der Tumorkapillaren lokalisiert. Ausgereifte, nicht-proliferierende ruhende Gefäße der untersuchten Organe waren negativ. Wird der Tumor nach funktionellen Gesichtspunkten in unterschiedliche zonale Abschnitte, nämlich Tumorzellen, Tumorrand und Tumorumgebung unterteilt, dann ist die positive Immunreaktion in den neuformierten Tumorkapillaren am Tumorrand zu finden. Dies deutet auf eine Funktion von CD66a in sehr frühen Phasen der Gefäßneubildung (Neoangiogenese) hin.

Beispiel 2

Wirkung von CD66a auf die Proliferation und Chemotaxe kultivierter Endothelzellen

Um die Wirkung von CD66a auf die Proliferation und Chemotaxe kultivierter Endothelzellen zu testen, wurde das Glykoprotein aus Membranfraktionen humaner Granulozyten gereinigt. Die Isolierung der Membranfraktion folgte etablierten Methoden (Drzeniek et al. (1991), Cancer Letters 56, 173-179; Stoffel et al. (1993), J. Immunol. 150, 4978-4984). Nach Extraktion der Membranglykoproteine mit einem nichtionischen Detergens wurden diese an einen immobilisierten monoclonalen CD66-Antikörper gebunden und mit Glycin-HCl bei pH 2,2 eluiert. Das Eluat wurde nach Neutralisierung gelchromatographisch über Superdex 200 (Pharmacia) weiter getrennt. Die CD66a-positiven Fraktionen wurden gepoolt. Verunreinigungen im niedermolekularen Bereich wurden mittels Ultrafiltration unter Verwendung eines Filters mit einem Ausschluß von 100 kD abgetrennt. Mittels SDS-PAGE im Silbergel wurde in Verbindung mit einem Western-Blot gezeigt, daß der Überstand ausschließlich CD66a enthielt. Diese Fraktion wurde für Zellkulturversuche mit Endothelzellen verwandt.

Die Versuche wurden mit zwei verschiedenen humanen Endothelzellformen durchgeführt, nämlich mit HUVEC-(human umbelical vein endothelial cells) und HDMEC-(human dermal microvascular endothelial cells) Zellen.

Die Wirkung von CD66a auf die Proliferation wurde in Monolayerkultur überprüft. Endothelzellen wurden in einer definierten Zahl auf eine Mikrotiterplatte ausgesät. Nach 72 Stunden wurde die Zahl der Endothelzellen in stimulierten und nicht-stimulierten Kulturen verglichen. Es zeigte sich, daß CD66a die Proliferation beider Zelllinien in dosisabhängiger Weise stimulierte.

Die Wirkung von CD66a auf die Chemotaxe wurde in einem zweikammrigen Kultursystem (sog. Boyden-Chamber) untersucht. In der oberen Kammer werden die Zellen kultiviert, die untere

Kammer enthält chemotaktische Substanzen. Die beiden Kammern sind durch ein Polycarbonatfilter getrennt, das einen Durchtritt der Zellen gestattet. Nach Zugabe von CD66a in die untere Kammer zeigte sich ein dosisabhängiger chemotaktischer Effekt auf beide Endothelzelllinien. Die Wirkung von CD66a war mit der Wirkung von VEGF vergleichbar. Wie aus Fig. 2 ersichtlich, besitzt CD66a (=BGP) ab einer Konzentration von 100 ng/ml einen chemotaktischen Effekt. Bei einer Konzentration von 150 ng/ml ist die chemotaktische Wirkung nur geringfügig geringer als die von VEGF (vascular endothelial growth factor).

Der chemotaktische Effekt von CD66a wurde auch in Kombination mit VEGF und bFGF ("basic fibroblast growth factor") analysiert. Der chemotaktische Effekt von VEGF bzw. bFGF wurde durch CD66a jeweils um etwa 30% gesteigert.

Kultivierte humane mikrovaskuläre Hautfibroblasten wurden mit CD66a (=BGP) in Konzentrationen von 50, 100, 200, 400 und 600 ng/ml inkubiert. Ab einer Konzentration von 200 ng/ml war eine proliferationssteigernde Wirkung von CD66a nachweisbar. Dies ist in Fig. 3 gezeigt.

Mit der positiven Wirkung auf Proliferation und Chemotaxe erfüllt CD66a die Hauptkriterien von Angiogenesefaktoren.

Beispiel 3

Wirkung von CD66a auf die Ausbildung kapillarähnlicher Gefäßrohre in Zellkultur.

Die in Beispiel 2 beschriebenen Versuchsergebnisse legen die Annahme nahe, daß CD66a kausal an der Ausbildung neuer Gefäße (Neoangiogenese) beteiligt ist. Um diese Hypothese zu testen, wären Tierversuche am geeignetsten. Da es sich bei CD66a jedoch um ein humanes Glykoprotein handelt, ist damit zu rechnen, daß die Wirkung im Versuchstier aufgrund der

Speziesunterschiede nicht oder nur gering ausgeprägt ist. Für diese Annahme spricht der Befund, daß der monoclonale anti-CD66a-Antikörper 4D1/C2 in menschlichen Geweben eine gute Reaktion zeigt. In den entsprechenden Geweben von Ratte und Maus ist die Reaktion schwach und nur schwer von einer unspezifischen Hintergrundreaktion zu unterscheiden. Der Antikörper 4D1/C2 bindet anscheinend an eine antigene Struktur, die in dieser Form in Nagern nicht vorkommt.

Um die durch Speziesunterschiede bedingten Probleme zu umgehen, werden Zellkulturmodelle verwendet, in denen Endothelzellen unter bestimmten Bedingungen zu Gefäßrohren auswachsen, die neugebildeten Kapillaren entsprechen (engl.: "tube formation"). Hierzu werden die Zellen in Anwesenheit von spezifischen Wachstumsfaktoren wie z.B. VEGF ("vascular endothelial growth factor") oder FGF-2 ("fibroblast growth factor") in einer bindegewebigen Matrix kultiviert. Diese Kulturform stellt eine gute Annäherung an in-vivo-Bedingungen dar.

Um die Bedeutung von CD66a für die Kapillarbildung zu untersuchen, wurden HUVEC- und HDMEC-Zellen in dreidimensionalen Collagen-I-Gelen gezüchtet. In Anwesenheit von Wachstumsfaktoren wie VEGF und FGF-2 bilden die Endothelzellen tubuläre Strukturen aus, die neugebildeten Kapillaren entsprechen. In Anwesenheit des monoclonalen CD66a-Antikörpers 4D1/C2 wurde die Ausbildung von Gefäßrohren gehemmt. Ein zweiter monoclonaler Antikörper, der gegen ein anderes Epitop auf CD66a gerichtet ist, hatte keinen Effekt auf die Entstehung von Tubuli. Diese Versuche belegen einen funktionellen Zusammenhang zwischen der Expression von CD66a und der Neubildung von kapillarähnlichen Gefäßrohren. Mit Hilfe des Antikörpers wird ferner die funktionelle Domäne von CD66a definiert.

Die Ergebnisse obiger Versuche sind in Fig. 4 gezeigt:

In Anwesenheit des Angiogenesefaktors VEGF (50 ng/ml) bilden

sich kapillarähnliche Strukturen aus (s. Abb 4a). Kapillarähnliche Strukturen äußern sich in Strängen ("tubes"), in denen die länglich ausgezogenen Endothelzellen parallel angeordnet sind. Diese Stränge sind Fischzügen vergleichbar. In der Mitte von Fig. 4a liegt eine Region, in der die Endothelzellen abgerundet sind. Dies sind keine "tubes".

In Fig. 4b ist das Ergebnis eines Experiments dargestellt, in dem die Kapillarbildung in Anwesenheit von VEGF (50 ng/ml) und CD66a (150 ng/ml) untersucht wurde. Im Vergleich mit Fig. 4a sind fast alle Endothelzellen an der Ausbildung von "tubes" beteiligt. Außerdem ist ein Verzweigungsmuster erkennbar, das für die weitere Differenzierung des Angiogeneseprozesses spricht. CD66a verstärkt somit den angiogenetischen Effekt von VEGF.

In Fig. 4c wurden die Endothelzellen in Anwesenheit von CD66a (300 ng/ml) und in Abwesenheit von VEGF kultiviert. Es zeigen sich kapillarähnliche Strukturen.

In Fig. 4d ist das Ergebnis eines Experiments dargestellt, in dem die Endothelzellen in Anwesenheit des monoklonalen Antikörpers 4D1/C2 kultiviert wurden. Die Bildung von Kapillaren ist vollständig gehemmt. Aus diesem Experiment folgt, daß der Antikörper 4D1/C2 an eine Domäne von CD66a bindet, die für die Kapillarbildung essentiell ist.

PATENTANSPÜCHE

- 1) Pharmazeutische Zusammensetzung zur Beeinflussung der Angiogenese, umfassend
 - (a) zur positiven Regulierung ein oder mehrere Stoffe von CD66a, CD66a-Fragmenten oder von CD66a abgeleitete Glykostrukturen, oder CD66a-Liganden, Ligandenfragmenten oder daraus abgeleiteten Strukturen, sowie Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand induzieren
 - oder
 - (b) zur negativen Regulierung ein oder mehrere Stoffe von Substanzen, die die Wechselwirkung zwischen CD66a und CD66a-Liganden hemmen, oder Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand hemmen.
- 2) Zusammensetzung nach Anspruch 1 (b), dadurch gekennzeichnet, daß die Substanzen, die die Wechselwirkung zwischen CD66a und CD66a-Liganden hemmen, Antikörper, Proteine oder Peptide sind, die spezifisch an eine oder mehrere der funktionellen Domänen von CD66a oder seiner Liganden binden.
- 3) Zusammensetzung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Antikörper ein anti-CD66a-Antikörper sind.
- 4) Zusammensetzung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Antikörper der monoklonale Anti-CD66a Antikörper 4D1/C2 ist, der bei der DSMZ Braunschweig am 22. Oktober 1998 unter DSM ACC2371 hinterlegt wurde.

- 5) Zusammensetzung nach Anspruch 1 (b), dadurch gekennzeichnet, daß die Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand hemmen, anti-sense Oligonukleotide oder anti-sense RNA sind.
- 6) Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 (b) bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie zur Unterbrechung der Tumorangiotenese von Lungen-, Brust- und Dickdarmkrebs befähigt ist.
- 7) Zusammensetzung nach Anspruch 1 (a), dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei den Substanzen, die die Expression von CD66a oder CD66a-Ligand induzieren, um DNA, die für CD66a, CD66a-Isoformen oder CD66a-Fragmente kodiert, handelt.



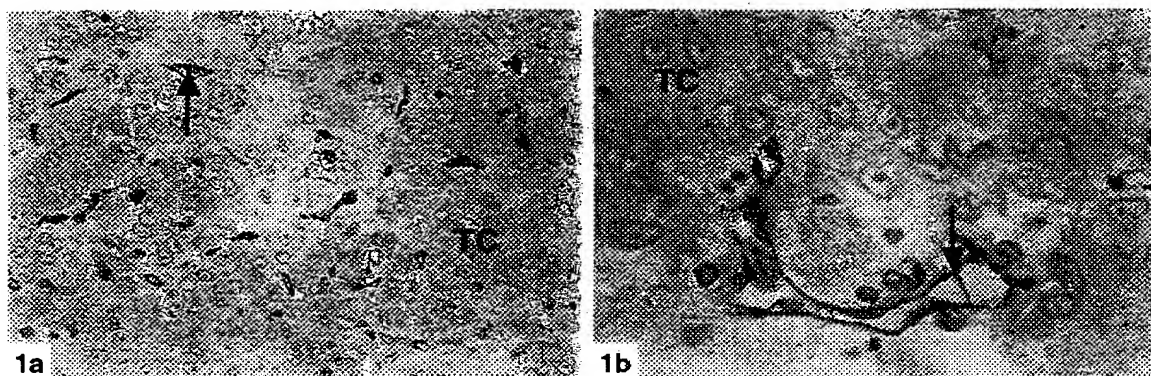


Fig. 1

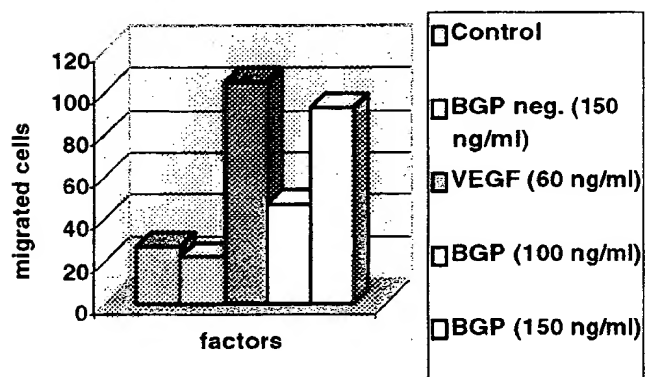


Fig. 2

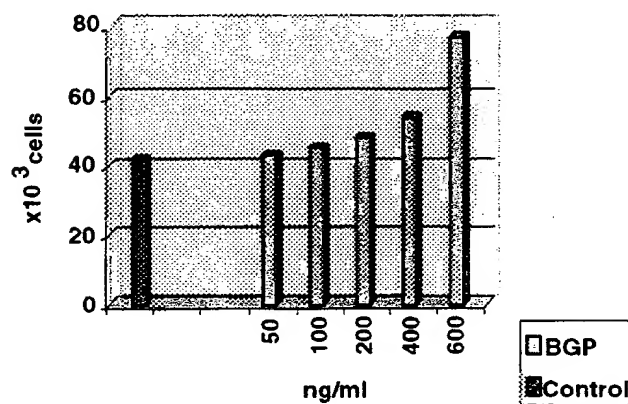


Fig. 3

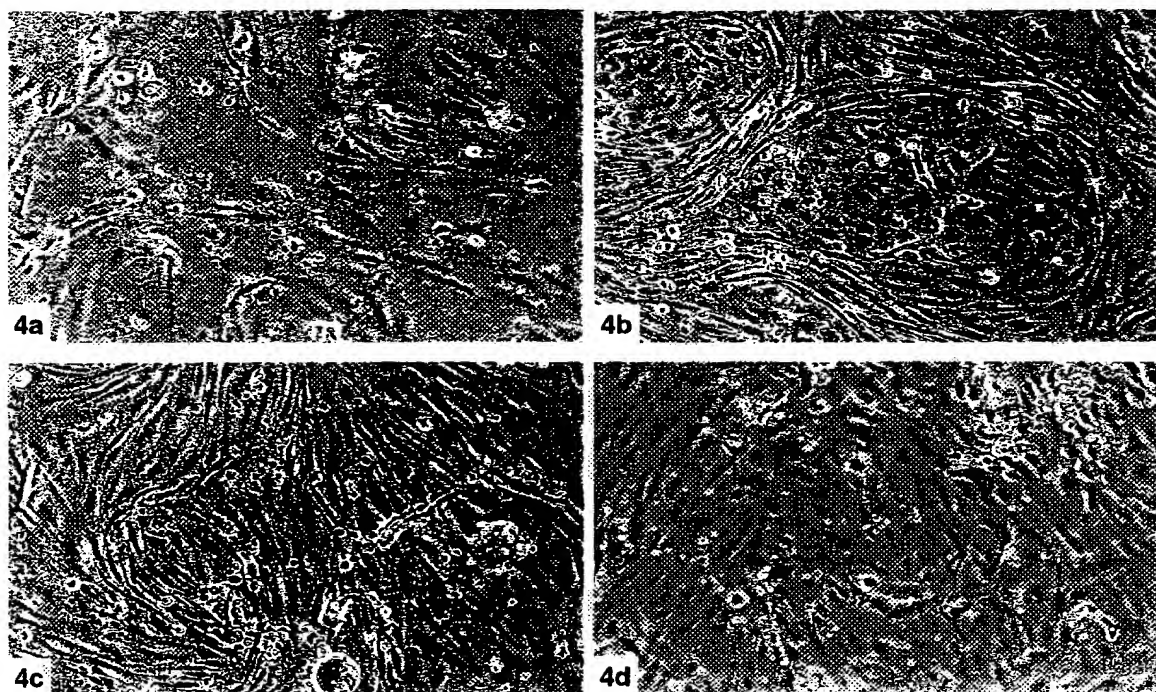


Fig. 4



1
2
3

4
5
6

TENT COOPERATION TREA

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
 United States Patent and Trademark
 Office
 Box PCT
 Washington, D.C.20231
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 07 July 2000 (07.07.00)	
International application No. PCT/DE99/03671	Applicant's or agent's file reference W 1554 sch/km
International filing date (day/month/year) 16 November 1999 (16.11.99)	Priority date (day/month/year) 16 November 1998 (16.11.98)
Applicant WAGENER, Christoph et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

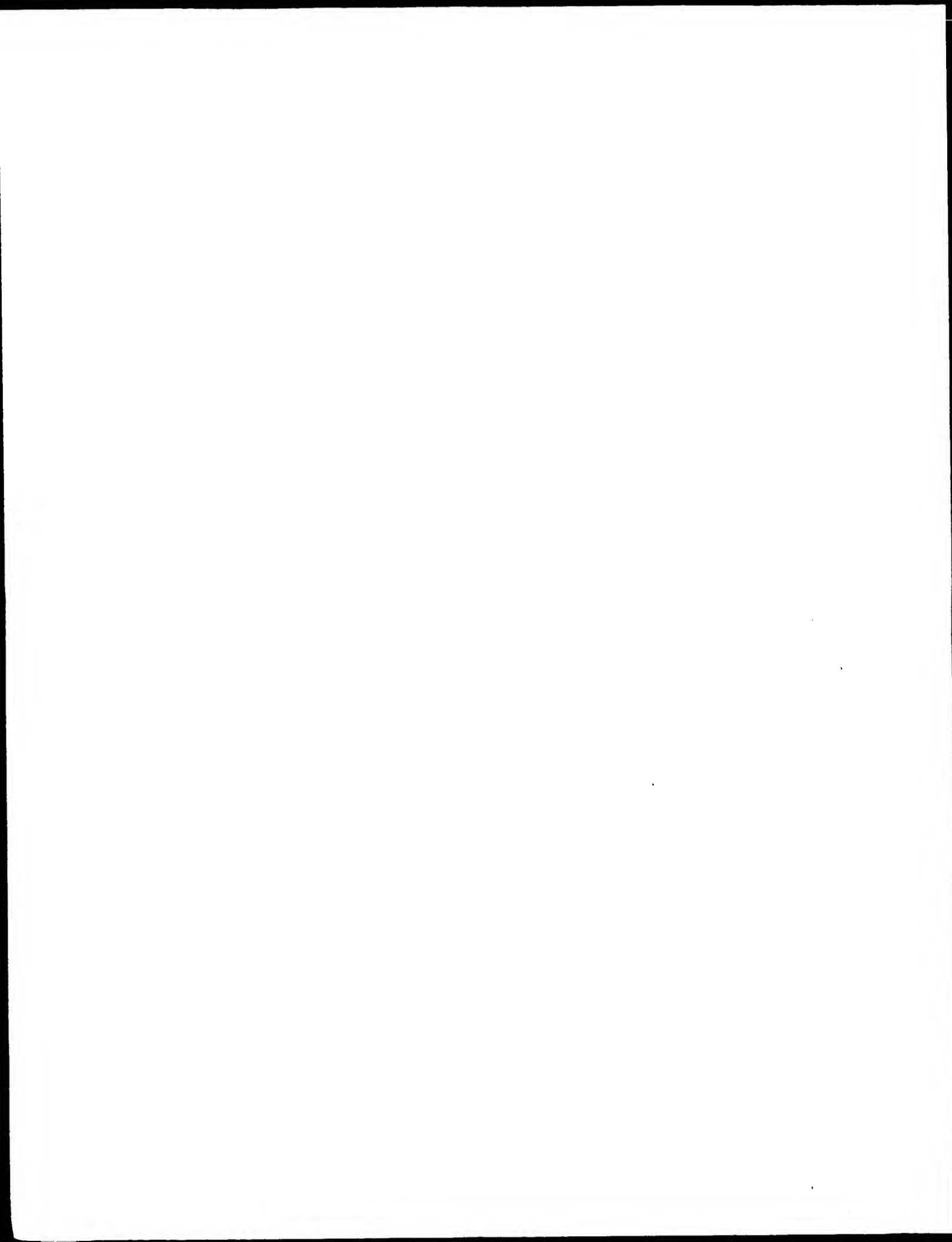
31 May 2000 (31.05.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Henrik Nyberg Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : A61K 38/17, 39/395		A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/29015
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. Mai 2000 (25.05.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/03671		(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 16. November 1999 (16.11.99)			
(30) Prioritätsdaten: 198 52 804.3 16. November 1998 (16.11.98) DE		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Mit Angaben über hinterlegtes biologisches Material, eingereicht gemäss Regel 13bis getrennt von der Beschreibung.</i>	
(71)(72) Anmelder und Erfinder: WAGENER, Christoph [DE/DE]; Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20251 Hamburg (DE).		(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 16. November 2000 (16.11.00)	
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ERGÜN, Süleyman [DE/DE]; Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20251 Hamburg (DE).			
(74) Anwalt: SCHÜSSLER, Andrea; Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).			
(54) Title: INFLUENCING OF ANGIOGENESIS USING CD66a			
(54) Bezeichnung: BEEINFLUSSUNG DER ANGIOGENESE DURCH CD66a			
(57) Abstract The invention relates to a pharmaceutical composition for influencing angiogenesis.			
(57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Beeinflussung der Angiogenese.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbajdschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 99/03671

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K38/17 A61K39/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, PAJ, WPI Data, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	STOFFEL, ARCHONTOULA ET AL: "Monoclonal, anti-domain and anti-peptide antibodies assign the molecular weight 160,000 granulocyte membrane antigen of the CD66 cluster to a mRNA species encoded by the biliary glycoprotein gene, a member of the carcinoembryonic antigen gene family" J. IMMUNOL. (1993), 150(11), 4978-84 , XP000919461 cited in the application the whole document	1-7
A	DRABEROVA L ET AL: "A novel monoclonal antibody specific for biliary glycoprotein (CD66a)." FOLIA BIOLOGICA, (1997) 43 (6) 243-4. , XP000918084 the whole document	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 August 2000

Date of mailing of the international search report

12/09/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mennessier, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 99/03671

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HUANG J ET AL: "Expression of biliary glycoprotein (CD66a) in normal and malignant breast epithelial cells." ANTICANCER RESEARCH, (1998 SEP-OCT) 18 (5A) 3203-12. , XP000918015 the whole document	1-7
A	BAMBERGER A M ET AL: "Dysregulated expression of CD66a (BGP, C-CAM), an adhesion molecule of the CEA family, in endometrial cancer." AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY, (1998 JUN) 152 (6) 1401-6. , XP000918049 the whole document	1-7
A	WO 97 00954 A (UNIV TEXAS ;HSIEH JER TSONG (US); LIN SUE HWA (US)) 9 January 1997 (1997-01-09) the whole document	1-7
T	ERGUN S ET AL: "CEA-related cell adhesion molecule 1: a potent angiogenic factor and a major effector of vascular endothelial growth factor." MOLECULAR CELL, (2000 FEB) 5 (2) 311-20. , XP000918037 the whole document	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/DE 99/03671

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9700954 A	09-01-1997	AU 6390596 A	22-01-1997



INTERNATIONALES FORSCHUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/03671

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>HUANG J ET AL: "Expression of biliary glycoprotein (CD66a) in normal and malignant breast epithelial cells."</p> <p>ANTICANCER RESEARCH, (1998 SEP-OCT) 18 (5A) 3203-12. ,</p> <p>XP000918015</p> <p>das ganze Dokument</p>	1-7
A	<p>BAMBERGER A M ET AL: "Dysregulated expression of CD66a (BGP, C-CAM), an adhesion molecule of the CEA family, in endometrial cancer."</p> <p>AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY, (1998 JUN) 152 (6) 1401-6. ,</p> <p>XP000918049</p> <p>das ganze Dokument</p>	1-7
A	<p>WO 97 00954 A (UNIV TEXAS ;HSIEH JER TSONG (US); LIN SUE HWA (US))</p> <p>9. Januar 1997 (1997-01-09)</p> <p>das ganze Dokument</p>	1-7
T	<p>ERGUN S ET AL: "CEA-related cell adhesion molecule 1: a potent angiogenic factor and a major effector of vascular endothelial growth factor."</p> <p>MOLECULAR CELL, (2000 FEB) 5 (2) 311-20. ,</p> <p>XP000918037</p> <p>das ganze Dokument</p>	1-7

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K38/17 A61K39/395

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, PAJ, WPI Data, EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	STOFFEL, ARCHONTOULA ET AL: "Monoclonal, anti-domain and anti-peptide antibodies assign the molecular weight 160,000 granulocyte membrane antigen of the CD66 cluster to a mRNA species encoded by the biliary glycoprotein gene, a member of the carcinoembryonic antigen gene family" J. IMMUNOL. (1993), 150(11), 4978-84 , XP000919461 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-7
A	DRABEROVA L ET AL: "A novel monoclonal antibody specific for biliary glycoprotein (CD66a)." FOLIA BIOLOGICA, (1997) 43 (6) 243-4. , XP000918084 das ganze Dokument	1-7

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. August 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

12/09/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mennessier, T

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/03671

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9700954 A	09-01-1997	AU 6390596 A	22-01-1997



3
1
1

1
1
1

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 20 OCT 2000



PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts W 1554 - sch/msl	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03671	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/11/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 16/11/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61K39/00		
Anmelder WAGENER, Christoph et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 31/05/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 17.10.2000
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Mennessier, T Tel. Nr. +49 89 2399 8687 



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03671

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-17 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-7 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/3-3/3 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-7
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-7
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-7
	Nein: Ansprüche	



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03671

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt



Zur Sektion V

a) Neuheit (Artikel 33(2) PCT)

Der Erfindung betrifft pharmazeutische Zusammensetzungen zur Beeinflussung der Angiogenese. In einem Fall kann durch Verabreichung von CD66a oder Substanzen, die die Bildung von CD66a initiierten, die Angiogenese gefördert werden, während im anderen Fall durch die Verwendung von Substanzen, die die Interaktion zwischen CD66a und CD66a-Liganden verhindern, die Angiogenese gehemmt werden kann.

Solche Zusammensetzungen werden im ermittelten Stand der Technik nicht beschrieben. Damit kann der gesamte beanspruchte Gegenstand als neu anerkannt werden.

b) Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT)

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis von der Erfindern, daß CD66a ein potenter angiogenetischer Faktor ist und die Gefäßneubildung bei Normal- und Tumorgewebe fördert.

Diese Erkenntnis könnte von einem Fachmann im ermittelten Stand der Technik nicht herangezogen werden. Daher kann der gesamte beanspruchte Gegenstand auch als erfinderisch erachtet werden.

c) Gewerbliche Anwendbarkeit

Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 1-7 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03671

einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue
medizinische Anwendung gerichtet sind.



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference W 1554 sch/km	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE99/03671	International filing date (day/month/year) 16 November 1999 (16.11.99)	Priority date (day/month/year) 16 November 1998 (16.11.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/17		
Applicant WAGENER, Christoph		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 31 May 2000 (31.05.00)	Date of completion of this report 17 October 2000 (17.10.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/03671

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1/17, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-7, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/3-3/3, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/DE 99/03671

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

a) Novelty (PCT Article 33(2))

The invention relates to pharmaceutical compositions for influencing angiogenesis. In one case, angiogenesis can be encouraged by the administration of CD66a or substances which initiate the formation of CD66a, whilst in another case angiogenesis can be inhibited by the use of substances which prevent the interaction of CG66a and CD66a ligands.

Compositions such as this are not described in the searched prior art. The claimed subject matter can therefore be deemed novel.

b) Inventive step (PCT Article 33(3))

The invention is based on the inventor's discovery that CD66a is a potent angiogenetic factor and encourages new vessel formation in normal and tumour tissues.

A person skilled in the art would be unable to derive this discovery from the searched prior art. The entire claimed subject matter can therefore also

be deemed inventive.

c) Industrial applicability

The PCT does not contain uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 1 to 7 in their present form. Patentability may also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical application.

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts W 1554 sch/km	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/ 03671	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/11/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 16/11/1998
Anmelder WAGENER, Christoph et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

